

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. April 2002 (04.04.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/26785 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C07K 14/18**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/11263

(22) Internationales Anmeldedatum: 28. September 2001 (28.09.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 00121138.2 28. September 2000 (28.09.2000) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **IMMUSYSTEMS GMBH** [DE/DE]; Öttingenstr. 34, 80538 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **GERLACH, Jörn, Tilman** [DE/DE]; Sollner Str. 43 b, 81479 München (DE). **DIEPOLDER, Helmut** [DE/DE]; Egetterstr. 17, 80689 München (DE).

(74) Anwalt: **GRÜNECKER KINKELDEY STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER**; Maximilianstr. 58, 80538 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,

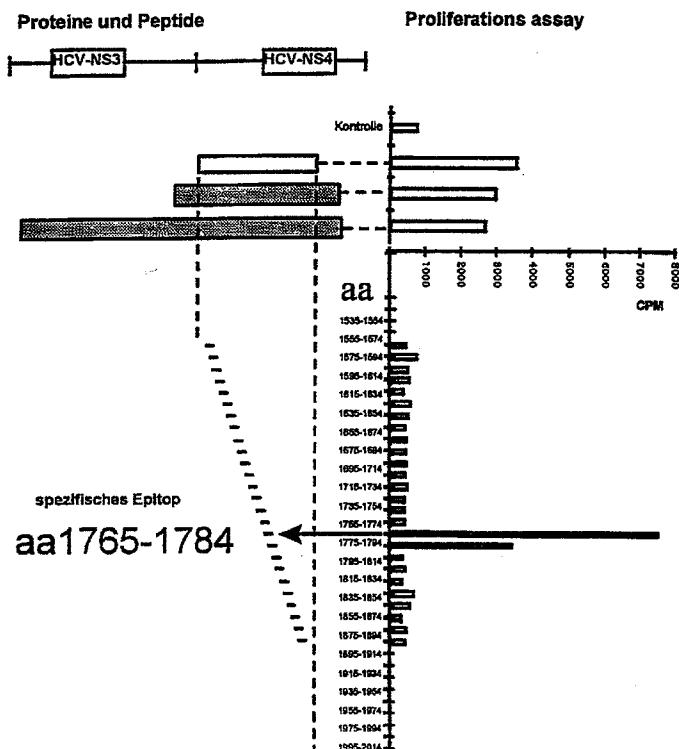
*[Fortsetzung auf der nächsten Seite]*

(54) Title: EPITOPIES OF VIRUS HEPATITIS C SPECIFICALLY CD4<sup>+</sup> T LYMPHOCYTES

(54) Bezeichnung: CD4<sup>+</sup> T-LYMPHOZYTEN SPEZIFISCHE HEPATITIS C VIRUS-EPITOPE

### Epitopkartierung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellklonen

Epitop aa1765-1784



(57) Abstract: The invention relates to hepatitis C virus epitopes which are specific in relation to CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, in addition to vaccinations which contain said epitopes.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Hepatitis C Virus-Epitope, die gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifisch sind, sowie Impfstoffe, die diese Epitope enthalten.



SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN,  
YU, ZA, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

## CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifische Hepatitis C Virus-Epitope

5 Die Erfindung betrifft Hepatitis C Virus-Epitope, die gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifisch sind, sowie Impfstoffe, die diese Epitope enthalten.

Das Hepatitis C Virus, im nachstehenden HCV genannt, wurde 1989 identifiziert und ist ein RNA Virus aus der Familie der Flaviviridae. Es 10 besteht aus einem RNA-Einzelstrang von ca. 9400 Nukleotiden, die ein ca. 3000 Aminosäuren langes Vorläuferpolyprotein kodieren. Dieses Polyprotein wird in einem offenen Leserahmen translatiert und posttranskriptionell proteolytisch gespalten. Das Virus ist hochvariabel, und es existieren verschiedene Virusisolaten, die als Genotypen bezeichnet 15 werden und deren geographische Verteilung sehr unterschiedlich ist. Mehr als sechs Genotypen werden heute weltweit unterschieden. Diese Genotypen wiederum werden in Subtypen unterteilt. Die genetische Variabilität besteht interindividuell und intraindividuell (innerhalb eines infizierten Individuums). Die intraindividuellen Subtypen sind die 20 sogenannten HCV Quasispezies, verwandte aber unterschiedliche Virussequenzen, die bei ungenauer Replikation entstehen.

Mit einer Prävalenz von ca. ein bis drei Prozent weltweit ist Hepatitis C eine 25 der bedeutendsten chronischen Virusinfektionen. Man geht derzeit von mindestens 180 Mio. infizierten Individuen aus. Nach Berechnungen des Center of Disease Control in den USA wird es aufgrund der langen Latenzzeit nach der Infektion mit dem HCV außerdem noch zu einem Anstieg der Hepatitis C assoziierten Erkrankungen bis zum Jahre 2010 kommen.

Das HCV wird überwiegend parenteral übertragen und war bis zu seiner Entdeckung die Hauptursache für die Posttransfusionshepatitis NonA-NonB. Durch routinemäßiges Testen aller Blutprodukte mit HCV-Antikörpertests der 2. und 3. Generation hat die Zahl der Posttransfusionshepatitiden drastisch abgenommen. Die sogenannte sporadische Hepatitis C sowie iv.-Drogenmißbrauch gelten heute als Hauptübertragungswege neuer HCV Infektionen. Es sind derzeit keine Maßnahmen bekannt, um Neuinfektionen auf diesen Wegen wirksam zu verhindern.

10 Das HCV verursacht eine chronische Leberentzündung (Hepatitis), die im langjährigem Verlauf zu weiteren Komplikationen, wie einer Leberzirrhose, führen kann. Im Rahmen einer jahrelang bestehenden Leberzirrhose kommt es bei ca. 5% aller Infizierten zur Entwicklung eines hepatzellulären Karzinoms. In der westlichen Welt nimmt die Hepatitis C deshalb den ersten

15 Rang als Ursache einer Lebertransplantation ein. Die Kosten für das Gesundheitswesen durch diese Transplantationen sind erheblich.

Bei chronischer Hepatitis C sind zwar gegen fast alle Virusproteine Antikörper nachweisbar, es gibt im Gegensatz zur Hepatitis B jedoch keine

20 Anti-HCV-Antikörperkonstellation, die eine Immunität gegenüber HCV oder eine Ausheilung anzeigt. Auch die Präsenz von Antikörpern gegen das HCV während einer chronischen HCV Infektion mildert den Verlauf nicht. Im Gegenteil scheint eine erfolgreiche Therapie mit einem Absinken der Antikörpertiter verbunden zu sein. Daher ist es nicht möglich, eine Infektion

25 mit Hepatitis C durch eine konventionelle, prophylaktische Impfung mit Hüllprotein, wie sie bei der Hepatitis B erfolgreich durchgeführt wird, zu verhindern. Eine therapeutische Impfung ist daher derzeit nicht verfügbar.

Die einzige derzeit zugelassene Therapie ist eine Behandlung mit Interferon alpha allein oder in Kombination mit Ribavirin für 3 bis 12 Monate. Diese

30 Therapieform ist sehr kostenintensiv, häufig mit Nebenwirkungen belastet und führt nur in ca. 40% der Fälle zu einer dauerhaften Viruselimination.

Aus Journal of Virology, Band 71, Seiten 6011 bis 6019 und Hepatology, Band 30, Nr. 4, 1999, Seiten 1088 bis 1098 ist bekannt, daß durch direkte periphere Blut-T-Zellstimulation und Spezifitätsanalyse von HCV-5 spezifischen T-Zelllinien, hoch-immunogene T-Zell-Epitope innerhalb der Core, NS3- und NS4-Region des Hepatitis C Virus identifiziert werden können. Dabei werden aus peripherem Blut T-Lymphozyten isoliert und die darin enthaltenen HCV spezifischen CD4+ T-Lymphozyten durch wiederholte Stimulation mit dem entsprechenden Virusprotein in vitro zu 10 sogenannten spezifischen T-Zelllinien angereichert. Durch die Analyse des Wachstumsverhaltens (Einbau radioaktiv markierter Nukleotide) dieser spezifischen T-Zelllinien nach Stimulation mit HCV-Protein und/oder den kleineren Untereinheiten, den Peptiden, kann die Sequenz des T-Zell-Epitops eingeengt werden. Insbesondere die Analyse von T-Zelllinien ergibt 15 im Vergleich zu T-Zell-Klonen aufgrund des Zellgemisches ungenaue Ergebnisse hinsichtlich der von den CD4+ T-Lymphozyten spezifisch erkannten Sequenz.

Daher liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, gegenüber 20 CD4+ T-Lymphozyten spezifische HCV-Epitope zu isolieren und die durch den CD4+ T-Lymphozyten identifizierten HCV-Epitope für einen Impfstoff zur Prophylaxe und/oder Therapie einer HCV-Infektion zur Verfügung zu stellen.

25 Die Lösung der Aufgabe sind die nachstehend genannten gegenüber CD4+ T-Lymphozyten spezifischen HCV-Epitope, enthaltend die Sequenz:

- 30 1) YLVAYQATVC;
- 2) VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL;
- 3) QYLAGLSTLPG;
- 4) IASLMAFTA;
- 5) FNILGGWVA; und/oder

6) SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA

und Derivate davon mit vergleichbarer Spezifität.

5 Insbesondere bevorzugt sind die folgenden Derivate der HCV-Epitope, die die HCV-Epitope 1) bis 5) enthalten:

7) GENLPYLVAYQATVCARÄQA

8) EVVTSTWVLVGGVLAALAA

10 9) FISGIQYLAGLSTLPGNPAIA

10) PGNPAIASLMAFTAATSP und/oder

11) SQTLLFNILGGWVAAQLAA

und Derivate davon mit vergleichbarer Spezifität.

15 Eine weitere Lösung der Aufgabe sind die nachstehenden, gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifischen HCV-Epitope, enthaltend die Sequenz:

12) TSVRLRAYLNTPGLPVCQDH

13) STEDLVNLLPAILSPGALVV

20 14) KLVALGINAVAYYRGLDVSIVPTSGDVVV

15) SGKPAIIPDREVLYREFDEM

16) LGIGTVLDQAETAGA

17) ETAGARLVVLATATP

18) CVTQTVDFSLDPTFT

25 19) RPSGMFDSSVLCECY

20) VFPDLGVRWVCEKMAL und/oder

21) KLGVPPLRVWRHRAR

sowie deren Derivate mit vergleichbarer Spezifität.

30 Eine weitere Lösung ist ein Impfstoff, der mindestens eines der erfindungsgemäßen Epitope 1) bis 21) enthält. Vorzugsweise enthält der Impfstoff das Epitop mit der Lage aa1773-1783, nämlich 3) QYLAGLSTLPG.

Der Impfstoff kann insbesondere bevorzugt ein Gemisch aus den erfindungsgemäßen Epitopen 1) bis 21) enthalten. Allerdings können auch weitere HCV Epitope anwesend sein.

5 Die Erfindung wird mittels der Figuren verdeutlicht. Es zeigen

Fig. 1 die Epitopenkartierung des Epitops an der Position aa1765 – 1784;

10 Fig. 2 das Kartieren des Epitops an der Position aa1773 – 1783 mittels N- oder C-terminal trunkierter Peptide;

Fig. 3 die Epitopenkartierung des Epitops an der Position aa1785 – 1804;

15 Fig. 4 das Kartieren des Epitops an der Position aa1787 – 1795 mittels N- oder C-terminal trunkierter Peptide;

Fig. 5 die Epitopenkartierung des Epitops an der Position aa1655 – 1674; und

20 Fig. 6 das Kartieren des Epitops an der Position aa1585 – 1594 mittels N- oder C-terminal trunkierter Peptide.

Fig.7 die Epitopkartierung des Epitops an der Position aa1535-1554 mit 20mer Peptiden,

25 Fig.8 die Epitopkartierung des Epitops an der Position aa11875-1894 mit 20mer Peptiden,

30 Fig.9 das Kartieren des Epitops an der Position aa1689 – 1708 mittels N- oder C-terminal trunkierter Peptide.

Die erfindungsgemäßen Epitope werden spezifisch von CD4<sup>+</sup>T-Lymphozyten erkannt, die bei einer selbstlimitierten HCV-Infektion im Patienten gebildet werden.

- 5 Die Lage der erfindungsgemäßen Epitope auf dem HCV-Protein ist jeweils für 1) aa1585 – 1594, 2) aa1655 – 1675, 3) aa1773 – 1783, 4) aa1787 – 1795, 5) aa1809 – 1817 und 6) aa1207 – 1226, 7) aa1580 – 1599, 8) aa1654 – 1673, 9) aa1768 – 1788, 10) aa1782 – 1800, 11) aa1804 – 1822, 12) aa1535 – 1554, 13) aa1875 – 1894, 14) aa1406 – 1434, 15) aa1689 – 10 1708, 16) aa1327 – 1341, 17) aa1337 – 1352, 18) aa1457 – 1472, 19) aa1507 – 1522, 20) aa2581 – 2595 und 21) aa2911 – 2930 wobei sich die angegebenen Positionen beispielsweise auf die Veröffentlichung CHOO, Q.-L. et al. PNAS 1991 beziehen.
- 15 Die erfindungsgemäßen Epitope, enthaltend die vorstehend genannten Sequenzen 1) bis 21), sind vorzugsweise die Sequenzen 1) bis 21) selbst. In dieser Ausführungsform der Erfindung sind die erfindungsgemäßen Epitope ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 1) YLVAYQATVC, 2) VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL, 3) QYLAGLSTLPG, 20 4) IASLMAFTA, 5) FNILGGWVA, 6) SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA, 7) GENLPYLVAYQATVCARAQA, 8) EVVTSTWVLVGGVLAALAA, 9) FISGIQYLAGLSTLPGNPAIA, 10) PGNPAIASLMAFTAAVTSP, 11) SQTLLFNILGGWVAAQLAA, 12) TSVRLRAYLNTPGLPVCQDH, 13) STEDLVNLLPAILSPGALVV, 14) KLVALGINAVAYYRGLDVSIPTSGDVV, 25 15) SGKPAIIPDREVLYREFDEM, 16) LGIGTVLDQAETAGA, 17) ETAGARLVVLATATP, 18) CVTQTVDFSLDPTFT, 19) RPSGMFDSSVLCECY, 20) VFPDLGVRVVCEKMAL und 21) KLGVPPPLRVWRHRAR.
- 30 Zur Identifizierung dieser gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifischen HCV-Epitope wurden bei Patienten mit akuter Hepatitis C Infektion, die einen selbstlimitierten Verlauf der Erkrankung hatten und bei denen

gleichzeitig in vitro eine starke HCV-spezifische T-Lymphozytenaktivität nachgewiesen werden konnte, T-Zellklone dieser virusspezifischen T-Lymphozyten aus T-Zelllinien mit Hilfe der klassischen Grenzverdünnungsmethode isoliert und kloniert. Dieses Verfahren gestattet 5 die Multiplikation einer einzelnen Zelle um viele Zehnerpotenzen und ermöglicht die Charakterisierung der Antigenspezifität mit einer klonalen Zellpopulation. Mit Hilfe der HCV-spezifischen T-Zellklone erfolgte eine genaue Charakterisierung des jeweils erkannten Epitops mittels N-terminal und C-terminal trunkierter Peptide, wie in den Fig. 2, 4 und 6 gezeigt.

10

Die erfindungsgemäßen Derivate der Epitope 1) bis 21) mit vergleichbarer Spezifität können in derselben Weise wie diese Epitope unter Verwendung der HCV-spezifischen T-Zellklone mittels N- und C-terminalen trunkierter Peptide gefunden werden oder durch Austausch einzelner oder mehrerer 15 Aminosäuren in den Sequenzen 1) bis 21) und Überprüfen der Spezifität dieser geänderten Sequenzen.

Die erfindungsgemäßen Epitope sind hochimmunogene, hochkonservierte und in unmittelbarer Nachbarschaft zu bekannten, gegenüber CD8+ T- 20 Lymphozyten spezifischen HCV-Epitopen gelegene Sequenzen des HCVs.

Als gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifische HCV-Epitope können diese neben der Induktion von CD4+ T-Lymphozyten auch sogenannte T-Zell-Hilfe für zytotoxische CD8+ T-Lymphozyten vermitteln. Diese CD8+T-Lymphozyten werden durch die Zytokine stimulierter CD4+ T-Lymphozyten aktiviert. Besonders wichtig ist in diesem Zusammenhang auch die unmittelbare Nachbarschaft der hier gefundenen HCV-Epitope zu 25 bekannten CD8+ Epitopen.

30 Die Epitope 1) bis 16) wurden durch frische periphere mononukleäre Zellen (PBMC) von 18 Patienten mit akuter HCV erkannt, nämlich für 1) von 6 Patienten, für 2) von 4 Patienten, für 3) von 6 Patienten, für 4) von 3

Patienten für 5) von 4 Patienten, für 7) von einem Patienten, für 8) von zwei unterschiedlichen Klonen eines Patienten, und für 9) und 10) von einem Patienten. Die Epitope 11) bis 16) wurden mit Hilfe HCV-spezifischer T-Zellklone von Patienten nach Lebertransplantation ermittelt, bei denen trotz 5 Immunsuppression nach der Transplantation eine Viruselimination stattgefunden hatte.

Die erfindungsgemäßen Epitope stimulierten nicht nur die T-Lymphozyten der Patienten, von denen die T-Zellklone stammen, sondern auch die 10 frischen peripheren mononukleären Zellen (PBMC) unterschiedlicher Patienten mit akuter Hepatitis C und selbstlimitiertem Verlauf. Das für die Antigenpräsentation bedeutsame HLA (Klasse I und II) dieser Personen mit positiver Reaktion auf diese Epitope war unterschiedlich, so daß von einer gewissen Promiskuität der Peptide (Präsentation auf unterschiedlichen 15 HLA-Rezeptoren) ausgegangen werden kann. Somit sind sie im Falle einer protektiven T-Zellimpfung hervorragend zur Impfung von gesunden Menschen oder Hepatitis C-Patienten mit jeweils unterschiedlichen HLA-Merkmalen geeignet.

20 Die erfindungsgemäßen Epitope können allein oder mit einem oder mehreren Hilfsstoffen als Arzneimittel, vorzugsweise als Impfstoff, eingesetzt werden. Der erfindungsgemäße Impfstoff enthält mindestens ein erfindungsgemäßes Epitop, vorzugsweise ein Gemisch aus erfindungsgemäßen Epitopen, insbesondere das Epitop an der Position 25 aa1773 – 1783, dem gegebenenfalls weitere erfindungsgemäße Epitope oder Epitope an anderen Positionen zugesetzt werden können.

Die Hilfsstoffe werden vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus fowlpoxvirus, modifiziertes Vakziniavirus Ankara, Virosomen, 30 Transvax® und anderen die Immunreaktion verstärkenden Stoffen.

Der erfindungsgemäße Impfstoff kann oral, parenteral, intramuskulär, intravenös, subcutan oder intracutan verabreicht werden.

Bei den erfindungsgemäßen Epitopen handelt es sich um Epitope, die als T-Zell-stimulierender Impfstoff eingesetzt werden können. Ein Impfstoff, der die erfindungsgemäßen Epitope enthält, hat gegenüber einer Impfung mit dem gesamten Virusprotein, das verschiedenste Epitope für virusspezifische T-Lymphozyten enthält und nur B-Lymphozyten und CD4<sup>+</sup>T-Lymphozyten induziert, den Vorteil, dass es spezifische T-Lymphozyten, CD4<sup>+</sup>- und/oder CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten selektiv induziert. Außerdem werden dadurch antagonistische Effekte bzw. die Gefahr von iatrogen erzeugten Autoimmunreaktionen, die bei Impfungen mit ganzen Proteinen auftreten können, vermieden. Die erfindungsgemäßen Epitope haben zusätzlich eine höhere Immunogenität im Vergleich zu dem gesamten Virusprotein, wodurch ein besseres Impfergebnis erreicht wird.

Der erfindungsgemäße Impfstoff ermöglicht somit im gesunden Menschen die Induktion einer Immunantwort und dient daher als prophylaktische Impfung. Auch bei chronisch HCV-infizierten Menschen kann der erfindungsgemäße Impfstoff eine Immunantwort induzieren und somit als therapeutischer Impfstoff dienen.

Die kodierende c-DNA dieser Epitope kann in einem DNA-Impfstoff, einer speziellen Impfmethode, eingesetzt werden. Dabei wird die für die entsprechenden Epitope codierende DNA in einen Vector kloniert. Dieses Konstrukt wird wiederum dem zu impfenden Individuum parenteral verabreicht (z.B. Immunology and Cell Biology, Band 75, Seite 382 bis 388). Entsprechend des degenerierten genetischen Codes können verschiedene DNA-Sequenzen eines der erfindungsgemäßen Epitope kodieren (siehe 30 Current protocols, Wiley).

Die erfindungsgemäßen Epitope können auch in der Diagnose des Verlaufs einer HCV-Infektion Verwendung finden, indem die Menge an CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten, die spezifisch das betreffende Epitop erkennen, im Blut des Patienten mit einer Hepatitis C Infektion überwacht wird. Dies kann 5 beispielsweise mit einem diagnostischen Kit durchgeführt werden, der eines oder mehrere der erfindungsgemäßen Epitope umfaßt.

### Beispiel 1

10 Von Patienten mit selbstlimitiertem Verlauf einer akuten Hepatitis C wurde in den ersten 6 Monaten nach Erkrankungsbeginn heparinisiertes Blut abgenommen. Durch Dichtegradientenzentrifugation auf Ficollgradienten wurden die frischen peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) isoliert und in einem Kulturmedium (RPMI1640, Gibco) suspendiert. 50 µl dieser Zellsuspension (Konzentration von  $1 \times 10^6$  Zellen pro ml) wurde auf sterile 96 Loch-Kulturplatten verbracht. Jeweils zehn Proben dieses Zellgemisches wurden durch Zugabe eines rekombinanten HCV-Proteins stimuliert. Die Endkonzentration des Proteins betrug 1 µg/ml. Die Zellkulturplatten wurden über 5 Tage bei 37°C und 5%CO<sub>2</sub> kultiviert. Am Tag 6 wurde der Kultur IL-2 15 zugegeben. Die Endkonzentration von IL-2 betrug 15U/ml und die Zellen wurden für weitere drei Tage bei 37°C und 5%CO<sub>2</sub> kultiviert. Diejenigen Löcher der Kulturplatte, die am Tag zehn bei mikroskopischer Kontrolle stark stimuliert erschienen, wurden eingesammelt und in seriellen Verdünnungsstufen auf eine weitere Kulturplatte verteilt. Mikroskopisch 20 wurde ein Loch ausgewählt, welches annähernd 150 Zellen enthielt. Diese 150 Zellen wurden mit Medium-verdünnt und auf 300 Löcher verteilt, so daß statistisch eine halbe Zelle in jedem Loch enthalten war. Sodann wurde IL-2 25 bis zu einer Endkonzentration von 15U/ml zugesetzt. Zusätzlich wurden  $3 \times 10^4$  autologe und mit 3000 Rad bestrahlte PBMC sowie 30 Phyhaemagglutinin (PHA) als Wachstumsfaktor zu jedem Loch zugegeben. Die Klone wurden expandiert (vermehrt) und anschließend in einem

Proliferationsassay mit HCV-Proteinen auf Antigenspezifität geprüft. Die Antigenspezifität wurde zunächst durch Stimulation mit Proteinen und sodann, im Falle eines positiven Ergebnisses, mit 20 Aminosäuren langen Peptiden (20mer-Peptiden) bestimmt, wie in Figur 1 gezeigt.

5

Dazu wurden T-Zellklone mit Proteinen, wie in Figur 1 links dargestellt, und antigenpräsentierenden Zellen stimuliert, und die Stimulation wurde als Einbau radioaktiv markierten  $^3\text{H}$ , wie in Figur 1 rechts dargestellt, gemessen. Zur weiteren Einengung des spezifisch erkannten Epitops wurde 10 mit zu der Proteinsequenz korrespondierenden 20 mer-Peptiden, die jeweils um 10 Aminosäuren überlappen, stimuliert und der Einbau des  $^3\text{H}$  erneut gemessen. So wurde das entsprechende Epitop auf 20 Aminosäuren eingeengt.

15

Das Epitop, die kleinste noch stimulierende Sequenz innerhalb des 20mer Peptides, wurde mit trunkierten Peptiden analysiert, d.h. das ursprüngliche 20mer Peptid wurde in aufsteigender Reihe von N-terminal gekürzt, wie in Figur 2 gezeigt. Ebenso wurde mit Peptiden, die von C-terminal trunkiert waren, verfahren. Ein Proliferationsassay zeigte, bis zu welcher Aminosäure 20 das Peptid gekürzt werden konnte, ohne nennenswerte Stimulationsverluste hinnehmen zu müssen.

25

Man erhält das Epitop QYLAGLSTLPG, wie in Figur 2 gezeigt. Durch Sequenzvergleich der charakterisierten Epitope mit Sequenzen der bekannten Genotypen ganzer HCV-Proteine stellte sich trotz der bekannt hohen genetischen Variabilität des HCV ein hoher Konservierungsgrad der Epitope heraus.

30

Da Peptide höchst empfindlich gegen Degradation sind und die antigenspezifische Erkennung des Peptid-HLA-Komplexes durch den T-Zellrezeptor interindividuell geringen Schwankungen unterliegen kann bzw. durch Verlust einer einzigen Aminosäure verloren werden kann, wie auch

die Syntheselänge der Peptide Schwankungen unterworfen sein kann, sollten die Epitope 1 bis 5 bei Verwendung in einer Vaccine jeweils N-terminal und C-terminal fünf Aminosäuren als Schutz vor Degradation bzw. zur Optimierung der Synthese und Sicherstellung der Antigenpräsentation 5 tragen, wobei diese verlängerten Epitope beispielsweise die Epitope 7 bis 11 sein können.

### **Beispiel 2**

10 Gemäß dem Verfahren nach Beispiel 1 wurden Klone erhalten. Die Antigenspezifität dieser Klone wurde dann, wie in Figur 3 gezeigt, bestimmt. Man erhält das entsprechende Epitop mit 20 Aminosäuren. Das Epitop innerhalb dieses 20mer Peptids wurde sodann, wie in Figur 4 gezeigt, bestimmt. Man erhält das Epitop IASLMAFTA.

15

### **Beispiel 3**

Gemäß dem Verfahren nach Beispiel 1 wurden Klone erhalten. Die Antigenspezifität dieser Klone wurde dann, wie in Figur 5 gezeigt, bestimmt.

20 Man erhält das entsprechende Epitop mit 20 Aminosäuren, nämlich VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL, gemäß Beispiel 1.

### **Beispiel 4**

25 Gemäß dem Verfahren nach Beispiel 1 wurden Klone erhalten. Die Antigenspezifität wurde ebenfalls, wie in Beispiel 1 beschrieben, bestimmt und das entsprechende Epitop mit 20 Aminosäuren erhalten. Wie in Figur 6 gezeigt, wurde sodann das Epitop bestimmt, nämlich YLVAYQATVC.

**Beispiel 5**

Gemäß dem Verfahren nach Beispiel 1 wurden Klone von Patienten nach

5 Lebertransplantation aus routinemäßig entnommenem Blut hergestellt. Bei Patienten nach Lebertransplantation wurde die Spezifität der T-Zellklone mit Hilfe des ELISPOT-assays analysiert. Dabei wird auf eine Nitrocellulose beschichtete Mikrotitterplatte ein Detektionsantikörper, in diesem Fall gegen Interferon gamma, aufgebracht, der sich an die Nitrocellulose anhaftet.

10

Im zweiten Schritt werden die spezifischen T-Zellklone zusammen mit antigenpräsentierenden Zellen und den zu testenden Antigen zugegeben. Nach Zugabe des spezifischen Antigens sezernieren die klonalen T-Lymphozyten u.a. Interferon gamma. Dies Zytokin wird über 48 Stunden

15 durch die Detektionsantikörper „abgefangen“. Nach Entfernung des Zellgemisches wird ein zweiter spezifischer Antikörper zugegeben, der den fixierten Zytokin-Antikörperkomplex erkennt und markiert. Der zweite Antikörper kann dann durch eine Farbstoffreaktion sichtbar gemacht werden, so daß die antigenspezifisch sezernierten Zytokine als Punkte 20 (Spots) imponieren, die schließlich unter dem Mikroskop ausgezählt werden können und in Bezug auf die Kontrolle ein Maß für die Antigenspezifität darstellen. In Analogie zum zuvor beschriebenen Proliferationstest können auch mit dem ELISPOT-assay Epitope kartiert werden.

## Patentansprüche

1. CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifische HCV-Epitope, enthaltend die  
5 Sequenz:

- 1) YLVAYQATVC;
- 2) VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL;
- 3) QYLAGLSTLPG;
- 4) IASLMAFTA;
- 10 5) FNILGGWVA, und/oder
- 6) SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA

und Derivate hiervon mit vergleichbarer Spezifität.

15 2. HCV-Epitope nach Anspruch 1, mit der folgenden Sequenz:

- 1) YLVAYQATVC;
- 2) VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL;
- 3) QYLAGLSTLPG;
- 4) IASLMAFTA;
- 20 5) FNILGGWVA, oder
- 6) SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA.

3. Derivate eines HCV-Epitops nach einem der Ansprüche 1 oder 2,  
enthaltend die Sequenz:

- 25 7) GENLPYLVAYQATVCARAQA
- 8) EVVTSTWVLVGGVLAALAA
- 9) FISGIQYLAGLSTLPGNPAIA
- 10) PGNPAIASLMAFTAAVTSP und/oder
- 11) SQTLLFNILGGWVAAQLAA

30 und Derivate hiervon mit vergleichbarer Spezifität.

4. Derivat eines HCV-Epitops nach Anspruch 3, mit den folgenden Sequenzen:

- 7) GENLPYLVAYQATVCARAQA
- 8) EVVTSTWVLVGGVLAALAA
- 5 9) FISGIQYLAGLSTLPGNPAIA
- 10) PGNPAIASLMAFTAAVTSP oder
- 11) SQTLLFNILGGWVAAQLAA.

5. CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifische HCV-Epitope, enthaltend die Sequenz:

- 10 12) TSVRLRAYLNTPGLPVCQDH
- 13) STEDLVNLLPAILSPGALVV
- 14) KLVALGINAVAYYRGLDVSIVPTSGDVVV
- 15) SGKPAIIPDREVLYREFDEM
- 15 16) LGIGTVLDQAETAGA
- 17) ETAGARLVVLATATP
- 18) CVTQTVDFSLDPTFT
- 19) RPSGMFDSSVLCECY
- 20) VFPDLGVRVVCEKMAL und/oder
- 20 21) KLGVPPLRVWRHRAR

sowie deren Derivate mit vergleichbarer Spezifität.

6. HCV-Epitope nach Anspruch 5, mit den folgenden Sequenzen:

- 12) TSVRLRAYLNTPGLPVCQDH
- 25 13) STEDLVNLLPAILSPGALVV
- 14) KLVALGINAVAYYRGLDVSIVPTSGDVVV
- 15) SGKPAIIPDREVLYREFDEM
- 16) LGIGTVLDQAETAGA
- 17) ETAGARLVVLATATP
- 30 18) CVTQTVDFSLDPTFT
- 19) RPSGMFDSSVLCECY
- 20) VFPDLGVRVVCEKMAL oder

21) KLGVPPLRVWRHRAR.

7. Impfstoff, mindestens ein HCV-Epitop nach einem der vorstehenden Ansprüche umfassend.

5

8. Impfstoff nach Anspruch 7, zusätzlich mindestens einen Hilfsstoff, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus fowlpoxvirus, modifiziertem Vakziniavirus Ankara, Virosomen, Transvax und anderen die Immunreaktion verstärkenden Stoffen, umfassend.

10

9. Impfstoff nach einem der Ansprüche 7 oder 8, in Form einer Injektionslösung.

10. HCV-Epitop nach einem der Ansprüche 1 bis 6 als Arzneimittel.

15

11. Verwendung mindestens eines HCV-Epitops nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Prophylaxe und/oder Therapie einer Hepatitis C Infektion.

20

12. Verwendung mindestens eines HCV-Epitops nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in der Diagnose einer Hepatitis C Infektion.

13. Diagnostischer Kit, mindestens eines der Epitope nach einem der Ansprüche 1 bis 6 umfassend.

25

14. c-DNA, eines der HCV-Epitope nach einem der Ansprüche 1 bis 6 kodierend.

15. Impfstoff, mindestens eine c-DNA nach Anspruch 14 umfassend.

## Epitopkartierung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellklonen

Epitop aa1765-1784

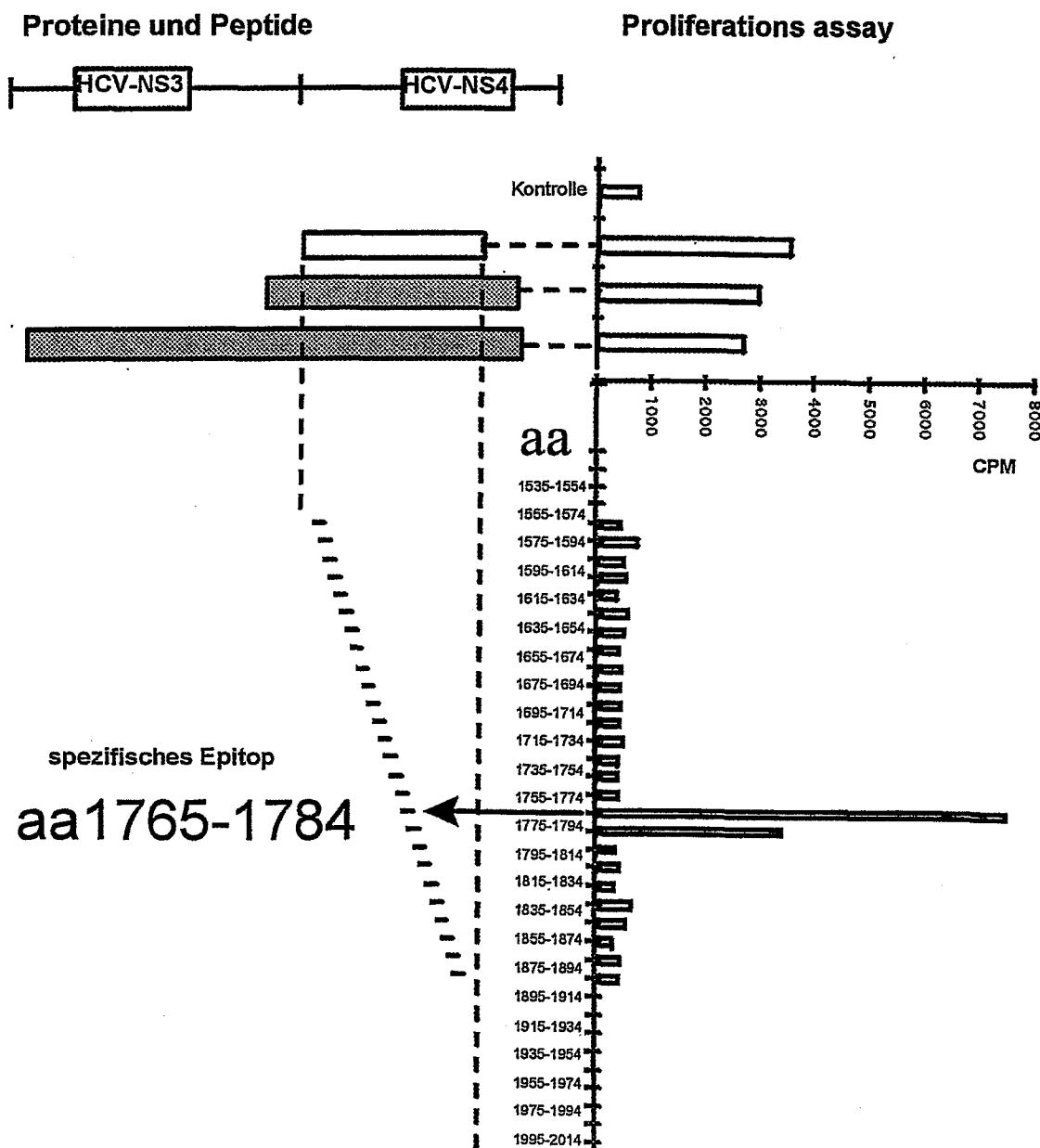


Fig. 1

## Epitop aa1773-1783

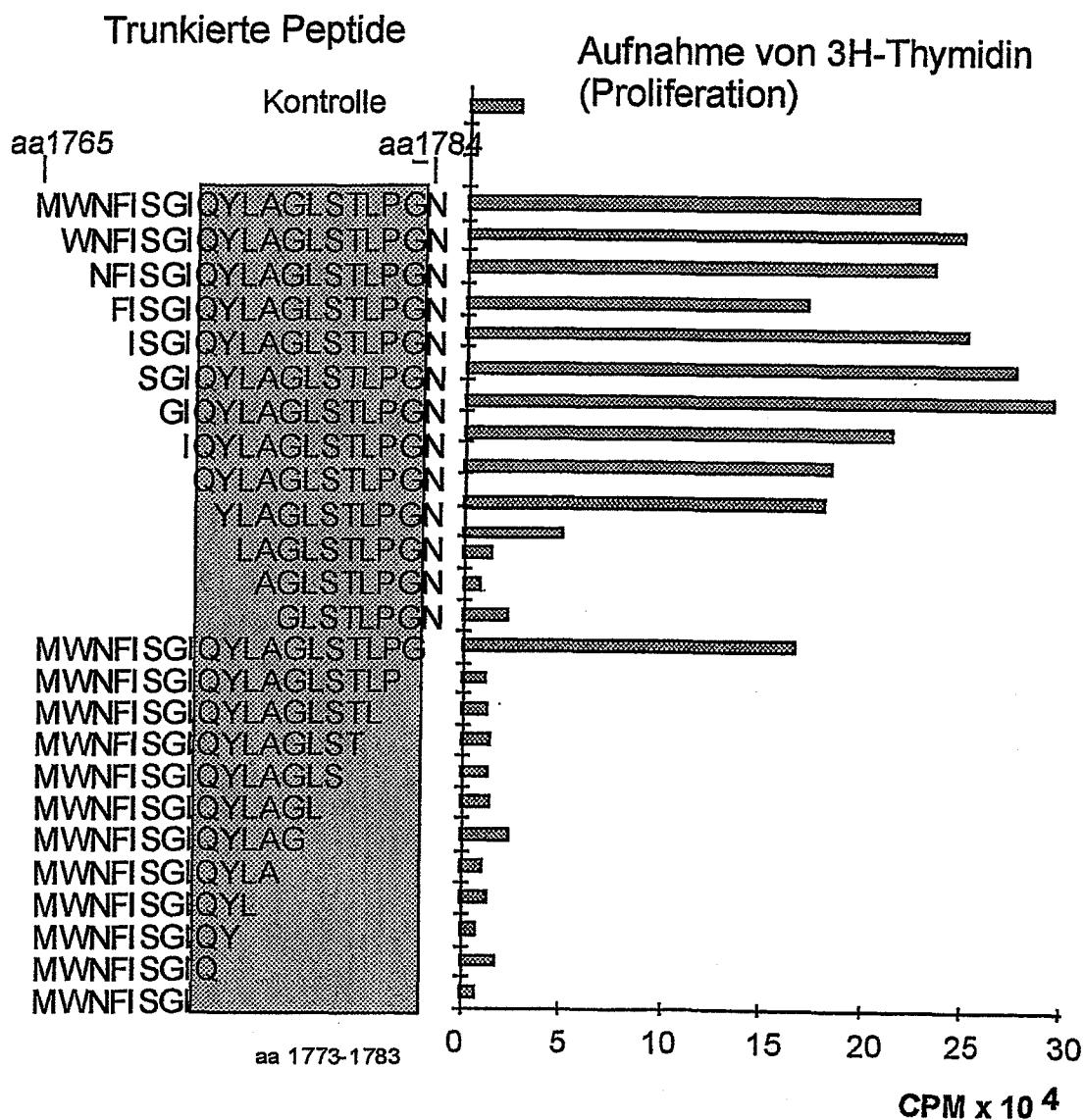
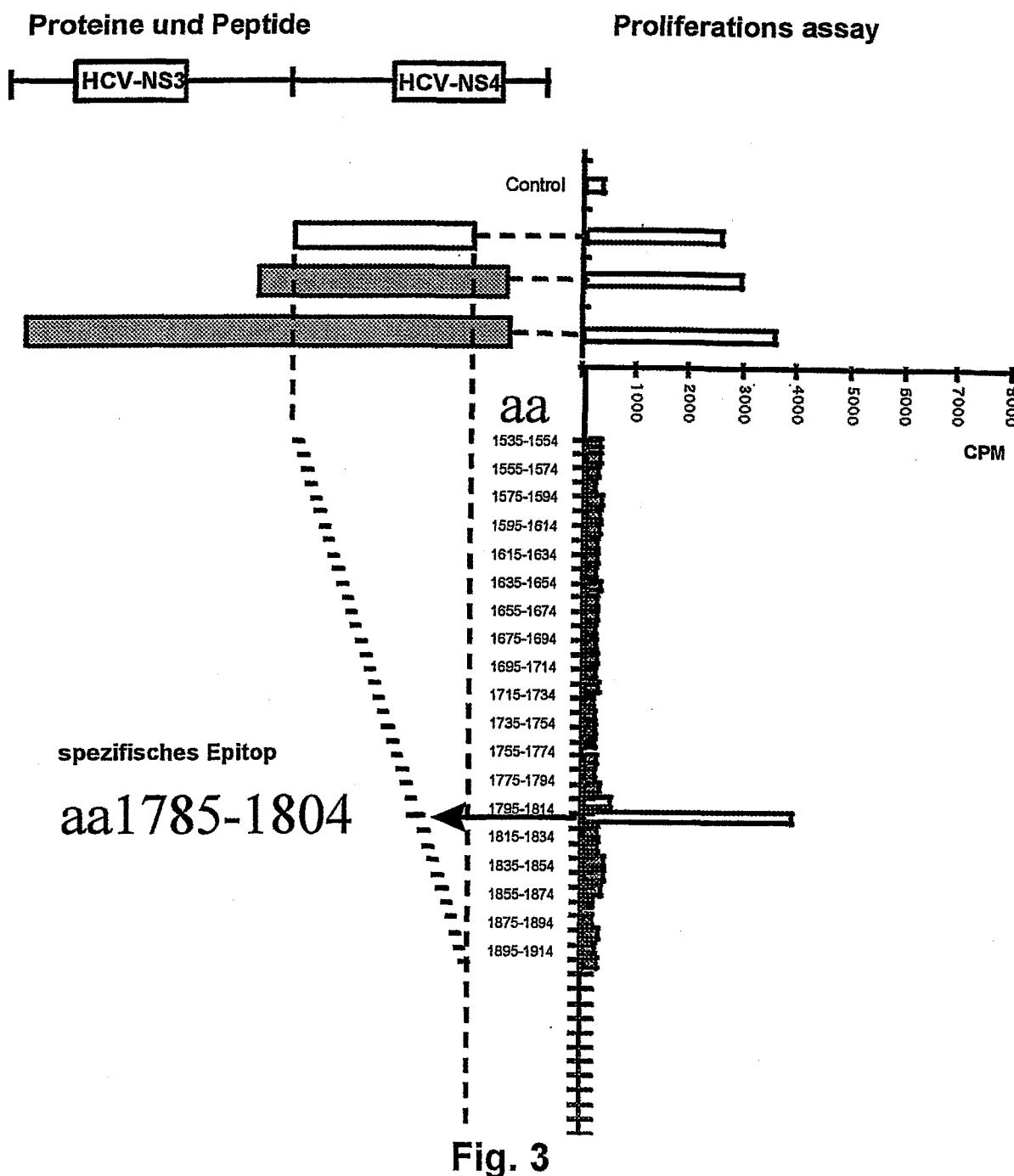


Fig. 2

## Epitopkartierung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellklonen

Epitop aa1785-1804



## Epitop aa1787-1795

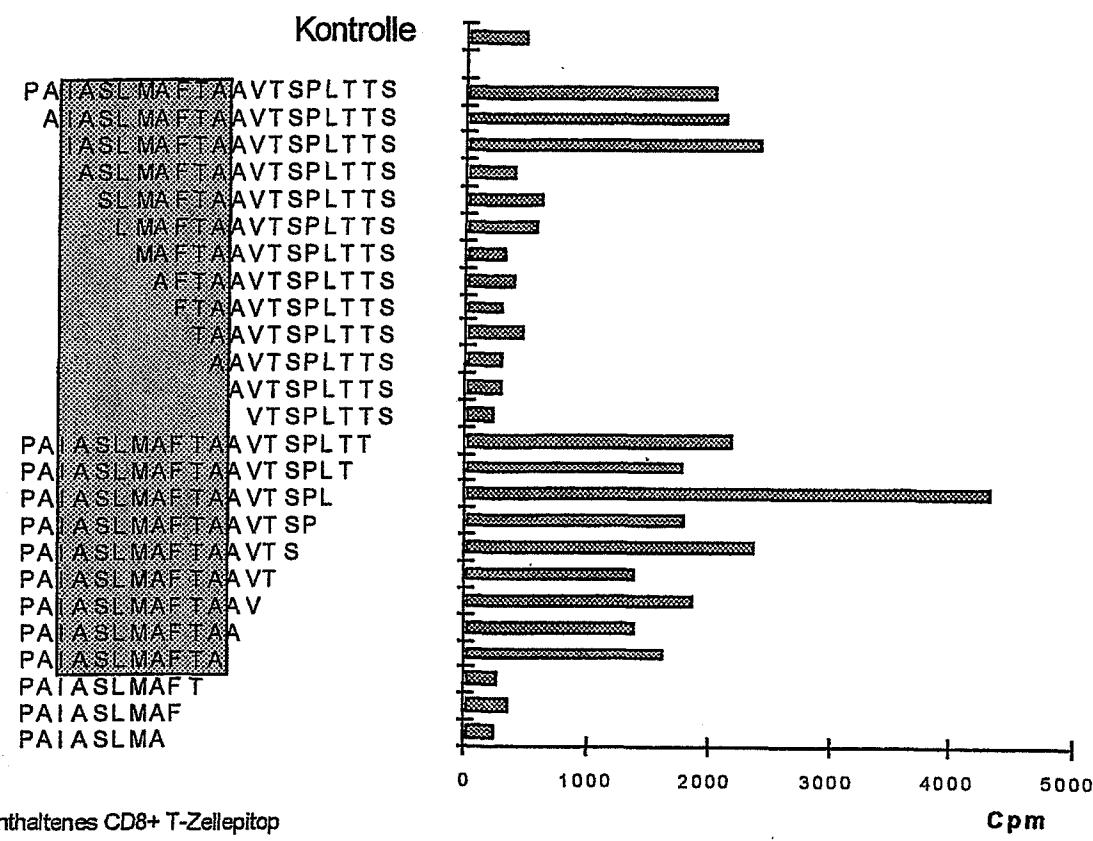


Fig. 4

## Epitopkartierung von CD4<sup>+</sup>-T-Zellklonen

Epitop aa1655-1674

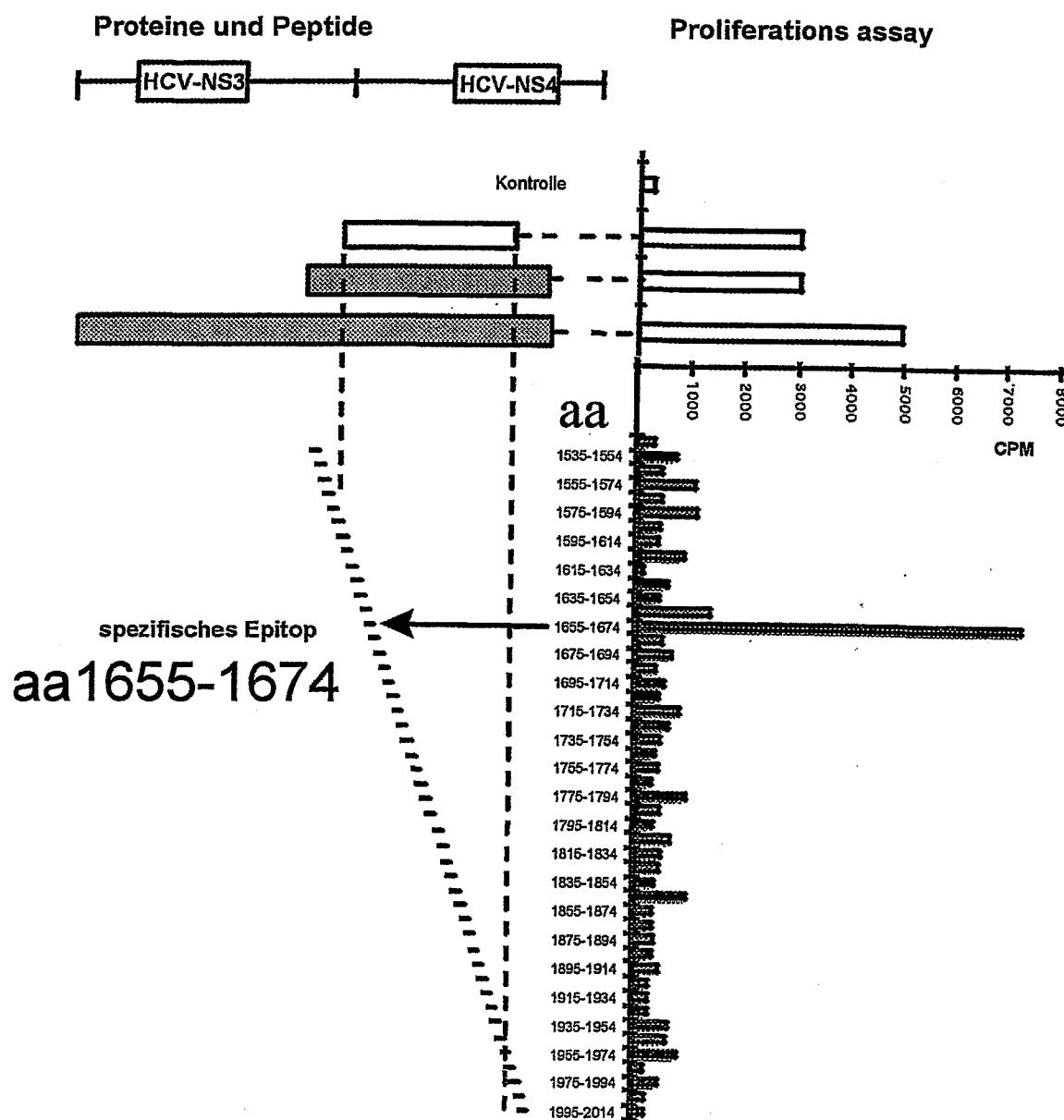


Fig. 5

6/9

## Epitop aa 1585-1594

1575                    1585                    1594                    1604  
|                        |                        |                        |  
\* QTKQSGENLPMVAYQATVC  
\* YLVAYQATVCARAQAPPSW  
\* NLPYLVAYQATVCAR  
\* LPYLVAYQATVCAR  
\* PYLVAYQATVCAR  
\* YLVAYQATVCAR  
\* YLVAYQATVCAR  
\* YLVAYQATVCAR  
\* YLVAYQATVCAR  
\* NLPYLVAYQATVCAR  
\* NLPYLVAYQATVCAR  
\* NLPYLVAYQATVC  
NLPYLVAYQATV  
NLPYLVAYQAT  
NLPYLVAYQA

**YLVAYQATVC Epitop**  
\* stimuliert spezifischen T-Zellklon

**Fig. 6**

## Epitopkartierung mit einem CD4+ T-Zellklon (Epitop aa1535-1554)

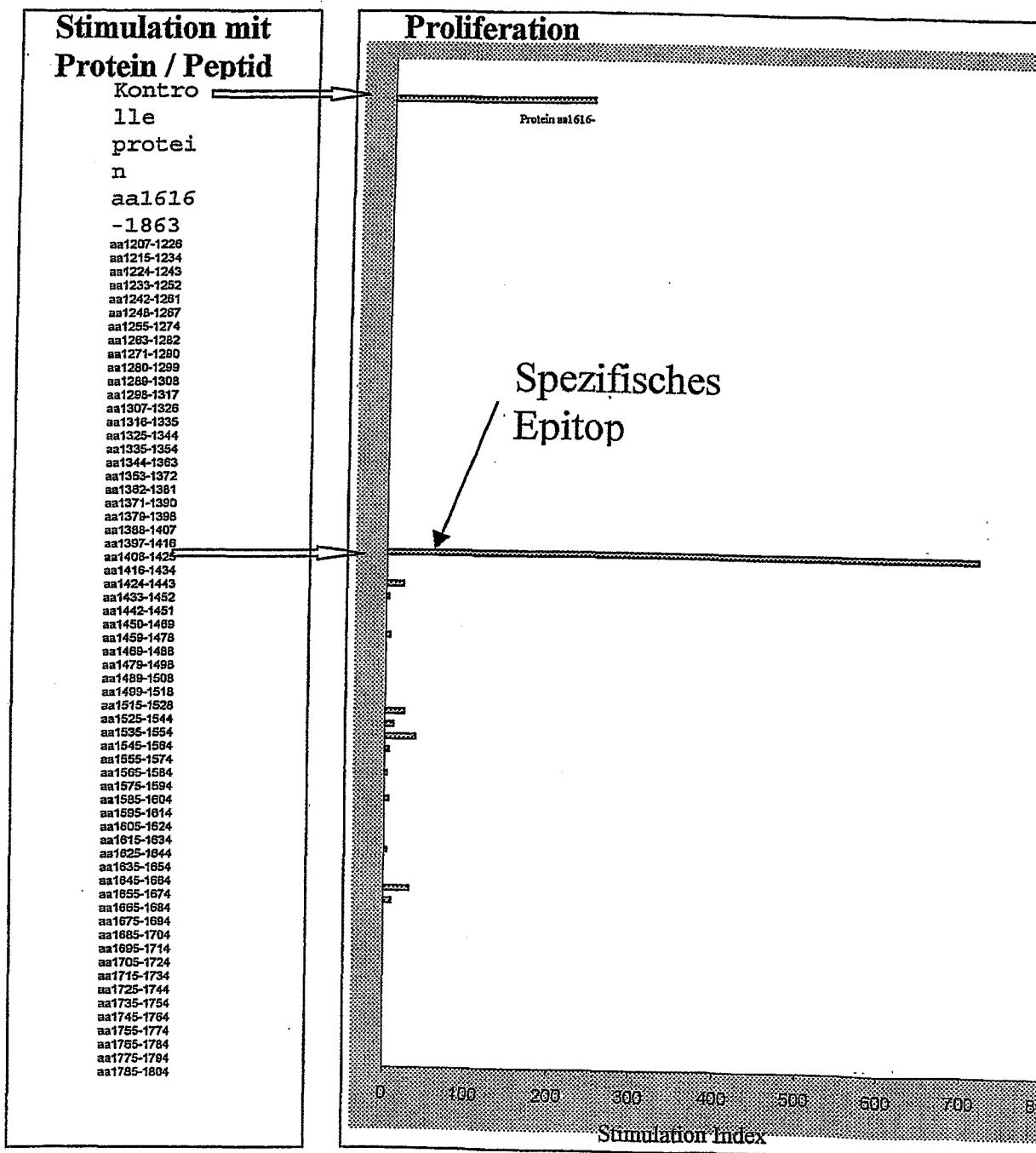
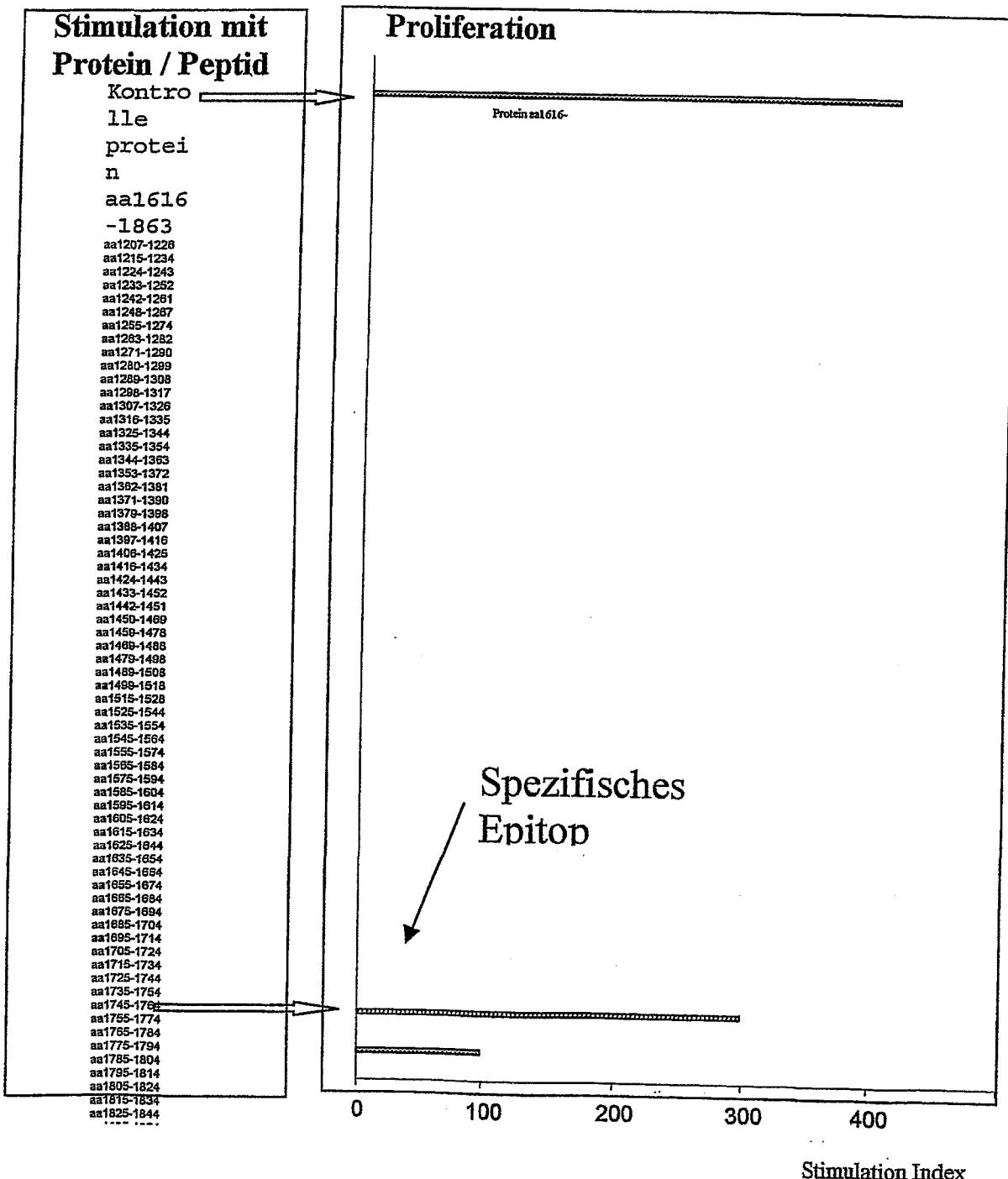


Fig. 7

## Epitopkartierung mit einem CD4+ T-Zellklon (aa1875-1894)



SI = Quotient der Einbaurate von 3H-Thymidin (cpm) in spezifisch stimuliert PBMC/ Einbaurate von 3H-Thymidin in unstimulierte

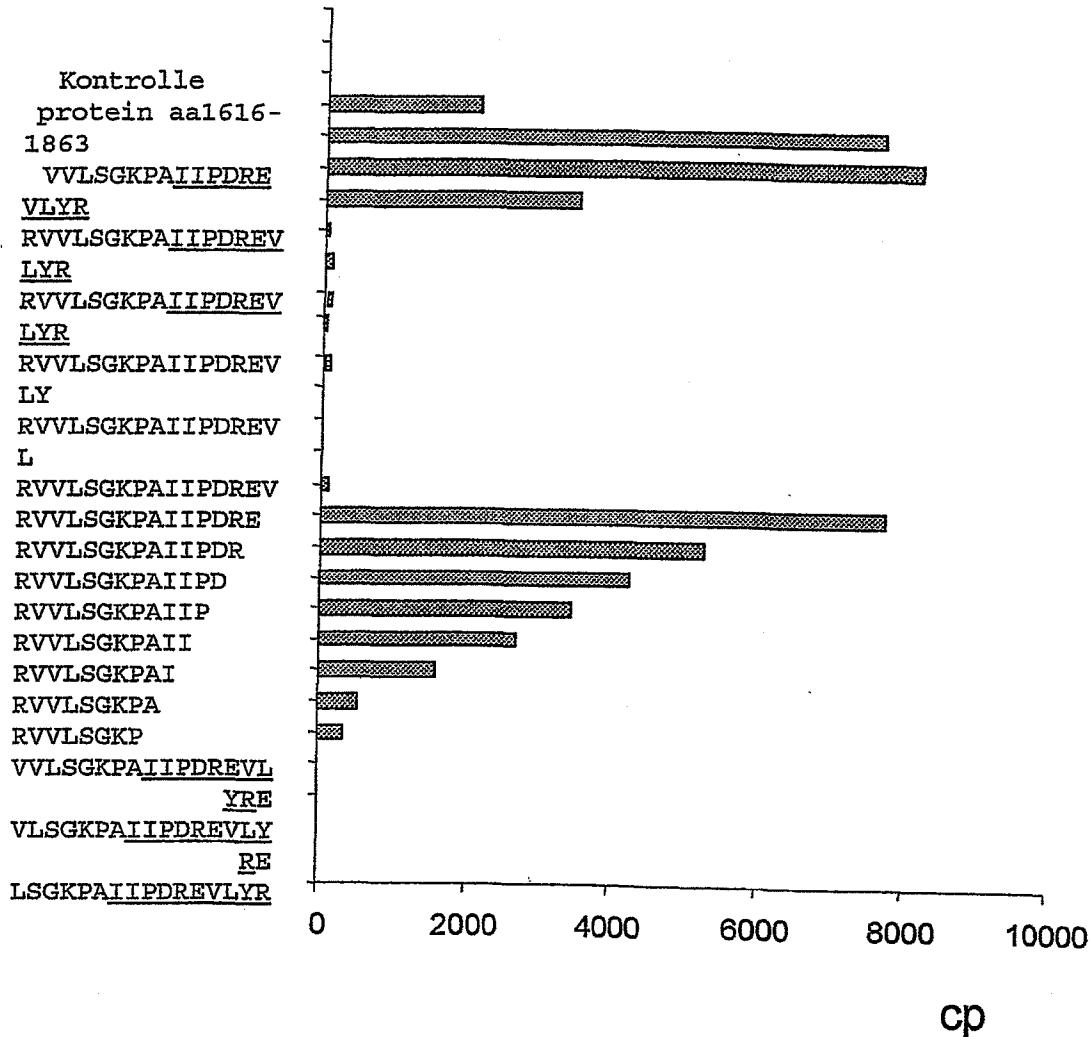
Fig. 8

9/9

## Finemapping des Epitop aa1689-1708 mit trunkierten Peptiden

Stimulation  
mit

Proliferations



cp

Cpm= counts pro Minute entspricht der Einbaurate

Fig. 9

## SEQUENZPROTOKOLL

## SEQUENCE LISTING

5

&lt;110&gt; Immusystems

10

&lt;120&gt; CD4+Lymphozyten spezifische HCV-Epitope

15

&lt;130&gt; DA1Ger

20 &lt;150&gt; EP 00121138.8

&lt;151&gt; 2000-09-28

25

&lt;160&gt; 21

30 &lt;170&gt; PatentIn version 3.1

35

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

40 &lt;213&gt; Hepatitis C virus

45

<400> 1  
Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys  
1 5 10

50 &lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

55 &lt;213&gt; Hepatitis C virus

60 &lt;400&gt; 2

Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala Ala Leu

	1	5	10	15
5	Ala Ala Tyr Cys Leu			
	20			
		<210> 3		
10	<211> 11			
		<212> PRT		
15	<213> Hepatitis C virus			
		<400> 3		
20	Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly			
	1	5	10	
25	<210> 4			
	<211> 9			
	<212> PRT			
30	<213> Hepatitis C virus			
35	<400> 4			
	Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala			
	1	5		
40	<210> 5			
	<211> 9			
45	<212> PRT			
	<213> Hepatitis C virus			
50	<400> 5			
	Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala			
	1	5		
55	<210> 6			
	<211> 20			
60	<212> PRT			

<213> Hepatitis C virus

5 <400> 6

Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro Ala Val Pro Gln Ser  
1 5 10 15

10

Phe Gln Val Ala  
20

15 <210> 7

<211> 20

<212> PRT

20

<213> Hepatitis C virus

25 <400> 7

Gly Glu Asn Leu Pro Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala  
1 5 10 15

30

Arg Ala Gln Ala  
20

35 <210> 8

<211> 19

<212> PRT

40

<213> Hepatitis C virus

45 <400> 8

Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala Ala  
1 5 10 15

50

Leu Ala Ala

55 <210> 9

<211> 21

<212> PRT

60

<213> Hepatitis C virus

<400> 9

5 Phe Ile Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly  
1 5 10 15

10 Asn Pro Ala Ile Ala  
20

<210> 10

15 <211> 19

<212> PRT

20 <213> Hepatitis C virus

<400> 10

25 Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala Ala Val  
1 5 10 15

30 Thr Ser Pro

<210> 11

35 <211> 19

<212> PRT

40 <213> Hepatitis C virus

<400> 11

45 Ser Gln Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala Gln  
1 5 10 15

50 Leu Ala Ala

<210> 12

55 <211> 20

<212> PRT

60 <213> Hepatitis C virus

<400> 12

Thr Ser Val Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val  
1 5 10 15

5

Cys Gln Asp His  
20

10

<210> 13

<211> 20

15 <212> PRT

<213> Hepatitis C virus

20

<400> 13

Ser Thr Glu Asp Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

25

Ala Leu Val Val  
20

30

<210> 14

<211> 29

35 <212> PRT

<213> Hepatitis C virus

40

<400> 14

Lys Leu Val Ala Leu Gly Ile Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu  
1 5 10 15

45

Asp Val Ser Val Ile Pro Thr Ser Gly Asp Val Val Val  
20 25

50

<210> 15

<211> 20

55 <212> PRT

<213> Hepatitis C virus

60

<400> 15

Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp Arg Glu Val Leu Tyr Arg Glu  
1 5 10 15

5 Phe Asp Glu Met  
20

10 <210> 16  
<211> 15  
<212> PRT  
15 <213> Hepatitis C virus

20 <400> 16  
Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala  
1 5 10 15

25 <210> 17  
      <211> 15  
      <212> PRT  
30 <213> Hepatitis C virus

35 <400> 17  
Glu Thr Ala Gly Ala Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro  
1 5 10 15

40 <210> 18  
41 <211> 15  
45 <212> PRT  
<213> Hepatitis C virus

50 <400> 18

Cys	Val	Thr	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Thr
1				5					10				15	

60 <210> 19  
<211> 15  
<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

5 <400> 19

Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys Glu Cys Tyr  
1 5 10 15

10

<210> 20

<211> 16

15 <212> PRT

<213> Hepatitis C virus

20

<400> 20

Val Phe Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Val Cys Glu Lys Met Ala Leu  
1 5 10 15

25

<210> 21

<211> 15

30

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

35

<400> 21

Lys Leu Gly Val Pro Pro Leu Arg Val Trp Arg His Arg Ala Arg  
40 1 5 10 15

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. April 2002 (04.04.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/026785 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07K 14/18, C12N 15/51, A61K 39/29, G01N 33/68, A61P 31/14

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/11263

(22) Internationales Anmeldedatum:  
28. September 2001 (28.09.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
00121138.2 28. September 2000 (28.09.2000) EP

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **IMMUSYSTEMS GMBH** [DE/DE]; Öttingenstr. 34, 80538 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **GERLACH, Jörn, Tilman** [DE/DE]; Sollner Str. 43 b, 81479 München (DE). **DIEPOLDER, Helmut** [DE/DE]; Egetterstr. 17, 80689 München (DE).

(74) Anwalt: **GRÜNECKER KINKELDEY STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER**; Maximilianstr. 58, 80538 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 6. November 2003

Zur Erklärung der Zwei-buchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



A3

**WO 02/026785**

(54) Title: EPITOPE OF VIRUS HEPATITIS C SPECIFICALLY CD4<sup>+</sup> T LYMPHOCYTES

(54) Bezeichnung: CD4<sup>+</sup> T-LYMPHOZYTEN SPEZIFISCHE HEPATITIS C VIRUS-EPITOPE

(57) Abstract: The invention relates to hepatitis C virus epitopes which are specific in relation to CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, in addition to vaccinations which contain said epitopes.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Hepatitis C Virus-Epitope, die gegenüber CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten spezifisch sind, sowie Impfstoffe, die diese Epitope enthalten.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C07K14/18	C12N15/51	A61K39/29	G01N33/68	A61P31/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K C12N A61K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, SEQUENCE SEARCH, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 32456 A (SIDNEY JOHN ;EPIMMUNE INC (US); SOUTHWOOD SCOTT (US); SETTE ALESSA) 30 July 1998 (1998-07-30) Seite 39, Epitop GIQLYL.... Seite 40, Epitop F134.05 Seite 42, Epitope 1283.31, 1283.33, 1283.34 und 1283.37 page 5, paragraph 2; claims page 6, last paragraph page 15, paragraph 1 ---	1-4, 7-12,14, 15
X	WO 99 02183 A (SIMARD JOHN J L ;CTL IMMUNOTHERAPIES CORP (CA); KUENDIG THOMAS M () 21 January 1999 (1999-01-21) page 43, Epitop LLFN... and Seq ID Nr. 431 claims ---	1-4,7, 10,11
		-/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 May 2003

Date of mailing of the international search report

15 JUL 2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

FUHR, C

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE WPI  Section Ch, Week 199601  Derwent Publications Ltd., London, GB;  Class B04, AN 1996-006960  XP002164075  -&amp; JP 07 285994 A (NIPPON SEIBUTSU KAGAKU  KENKYUSHO ZH),  31 October 1995 (1995-10-31)  page der Patentschrift, Epitop PVFT...  abstract</p> <p>---</p>	1-4,12
X	<p>WO 94 13699 A (AKZO NOBEL NV ;BOENDER  PIETER JACOB (NL); HABETS WINAND JOHANNES  A) 23 June 1994 (1994-06-23)  Seq ID Nr. 10  claims</p> <p>---</p>	1-4, 7-12,14, 15
X	<p>WO 99 45954 A (EPIMMUNE INC)  16 September 1999 (1999-09-16)  page 73, Epitop VAY...  page 130, Epitop NPAI...  claims</p> <p>---</p>	1-4,7,9, 10
X	<p>WO 93 06247 A (ABBOTT LAB)  1 April 1993 (1993-04-01)  Seq ID Nr. 10  claims; examples</p> <p>---</p>	1-4,12
X	<p>WO 94 20127 A (CYTEL CORP)  15 September 1994 (1994-09-15)  Seite 90, Epitope LLFNIL... und VLAAL....  Seite 107, Epitop 1.0890  Seite 108, Epitope 1.0493, 1.0889 und  1.0492  claims; examples</p> <p>---</p>	1-4,7, 9-11
X	<p>WO 95 22317 A (CYTEL CORP)  24 August 1995 (1995-08-24)  example 12</p> <p>---</p>	1-4,7, 9-11
X	<p>US 5 709 995 A (CHISARI FRANCIS V ET AL)  20 January 1998 (1998-01-20)  Seq ID Nr. 35  column 23; claims; examples</p> <p>---</p>	1-4,7, 9-12
X	<p>WO 99 58658 A (EPIMMUNE INC)  18 November 1999 (1999-11-18)  page 67, Epitop F134.05  page 68, Epitop 1073.05  claims; examples</p> <p>-----</p>	1-4,14, 15

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/EP 01/11263

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

**see additional sheet (FURTHER INFORMATION FROM PCT/ISA/210)**

3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**see additional sheet**

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-4, 7-15 (all in part)

**Remark on Protest**

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

## Continuation of Box 1.2

The current Claims 1, 3 and 5 as well as Claims 7-15, which are based thereon, relate to a disproportionately large number of possible compounds, products and methods. In fact, they encompass so many alternatives, variables, possible permutations and/or restrictions, that they appear unclear or too broadly worded (EPC Article 84) to the extent that it is impossible to conduct a meaningful search. In the present instance this implies in particular the wording "and derivatives thereof with comparable specificity" in Claim 1, which is clarified further in the description only in a vague manner or is restricted. Therefore, the search was directed to the parts of the claims that can be considered clear and concise, that is to say Claims 1, 3 and 5, without the wording "and derivatives thereof with comparable specificity". Furthermore, the search of Claims 7-15, which are either dependent on Claim 1 or refer back thereto, was carried out according to the restricted Claims 1, 3 and 5.

The applicant is advised that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely

1. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

1.1. Claims: 1-4 and 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence YLVAYQATVC, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

1.2. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

1.3. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence QYLAGLSTLPG, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

1.4. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence IASLMAFTA, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

1.5. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence FNILGGWVA, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 1.6. Claims: 1-4, 7-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 2. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence TSVRLRAYLNTPGLPVDQDH, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 3. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence STEDLVNLLPAILSPGALVV, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 4. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence KLVALGINAVAYYRGLDVSVIPTSGDVVV, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 5. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence SGKPAIIPDREVLYREFDEM, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 6. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence LGIGTVLDQAETAGA, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 7. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence ETAGARLVVLATATP, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 8. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence CVTQTVDFSLDPTFT, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 9. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence RPSGMFDSSVLCECY, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 10. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence VFPDLGVRVVCEKML, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

## 11. Claims: 5-15 (all in part)

Epitopes containing the sequence KLGVPLRVWRHRAR, vaccines based thereon, uses for diagnosis and therapy, kits, DNA coding for said epitopes and use of the latter as a vaccine.

Please note that all the inventions specified under point 1, though not necessarily linked by a common inventive concept, could be searched in full without entailing added effort that would have justified an additional search fee.

## Information on patent family members

In national Application No

PCT/EP 01/11263

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 9832456	A 30-07-1998		AU 6433598 A CN 1251042 T EP 1007079 A1 JP 2001511132 T US 6413517 B1 WO 9832456 A1 US 2002160019 A1	18-08-1998 19-04-2000 14-06-2000 07-08-2001 02-07-2002 30-07-1998 31-10-2002
WO 9902183	A 21-01-1999		AU 739189 B2 AU 8568998 A EP 1003548 A1 JP 2001509490 T NZ 502168 A WO 9902183 A2 US 2002007173 A1	04-10-2001 08-02-1999 31-05-2000 24-07-2001 28-08-2002 21-01-1999 17-01-2002
JP 7285994	A 31-10-1995		NONE	
WO 9413699	A 23-06-1994		AU 5809694 A AU 6653394 A CA 2151126 A1 CA 2151128 A1 WO 9413699 A1 WO 9413700 A1 EP 0672065 A1 EP 0672066 A1 FI 952778 A FI 952779 A JP 8505131 T JP 8504421 T ZA 9309169 A	04-07-1994 04-07-1994 23-06-1994 23-06-1994 23-06-1994 23-06-1994 20-09-1995 20-09-1995 19-07-1995 31-07-1995 04-06-1996 14-05-1996 08-08-1994
WO 9945954	A 16-09-1999		WO 9945954 A1 AU 6465598 A CA 2323632 A1 EP 1064022 A1 JP 2002507397 T	16-09-1999 27-09-1999 16-09-1999 03-01-2001 12-03-2002
WO 9306247	A 01-04-1993		AT 191792 T AU 2679492 A DE 69230917 D1 DE 69230917 T2 EP 0642666 A1 ES 2145746 T3 JP 6510861 T JP 3219409 B2 WO 9306247 A1	15-04-2000 27-04-1993 18-05-2000 16-11-2000 15-03-1995 16-07-2000 01-12-1994 15-10-2001 01-04-1993
WO 9420127	A 15-09-1994		AU 6359494 A AU 6597998 A BR 9406652 A CA 2157510 A1 CN 1118572 A EP 0703783 A1 JP 8507525 T NZ 263050 A SG 49008 A1 WO 9420127 A1	26-09-1994 02-07-1998 10-09-1996 15-09-1994 13-03-1996 03-04-1996 13-08-1996 24-11-1997 18-05-1998 15-09-1994

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l Application No

PCT/EP 01/11263

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9420127	A	US	2002160960 A1	31-10-2002
WO 9522317	A	24-08-1995	US 6419931 B1 AU 1847395 A AU 2500499 A CA 2183416 A1 EP 0804158 A1 WO 9522317 A1 US 2003099634 A1	16-07-2002 04-09-1995 24-06-1999 24-08-1995 05-11-1997 24-08-1995 29-05-2003
US 5709995	A	20-01-1998	AT 195953 T CA 2184890 A1 DE 69518642 D1 DE 69518642 T2 EP 0759937 A1 WO 9525122 A1 US 2002115061 A1	15-09-2000 21-09-1995 05-10-2000 03-05-2001 05-03-1997 21-09-1995 22-08-2002
WO 9958658	A	18-11-1999	AU 4078599 A CA 2331846 A1 EP 1078092 A2 JP 2002520000 T WO 9958658 A2 US 6534482 B1	29-11-1999 18-11-1999 28-02-2001 09-07-2002 18-11-1999 18-03-2003

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 IPK 7 C07K14/18 C12N15/51 A61K39/29 G01N33/68 A61P31/14

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K C12N A61K G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, SEQUENCE SEARCH, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 32456 A (SIDNEY JOHN ;EPIMMUNE INC (US); SOUTHWOOD SCOTT (US); SETTE ALESSA) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 39, Epitop GIQLYL.... Seite 40, Epitop F134.05 Seite 42, Epitope 1283.31, 1283.33, 1283.34 und 1283.37 Seite 5, Absatz 2; Ansprüche Seite 6, letzter Absatz Seite 15, Absatz 1 ---	1-4, 7-12,14, 15
X	WO 99 02183 A (SIMARD JOHN J L ;CTL IMMUNOTHERAPIES CORP (CA); KUENDIG THOMAS M () 21. Januar 1999 (1999-01-21) Seite 43, Epitop LLFN... und Seq ID Nr. 431 Ansprüche ---	1-4,7, 10,11

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

8. Mai 2003

15 JUL 2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

FUHR, C

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199601 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1996-006960 XP002164075 -& JP 07 285994 A (NIPPON SEIBUTSU KAGAKU KENKYUSHO ZH), 31. Oktober 1995 (1995-10-31) Seite 11 der Patentschrift, Epitop PVFT... Zusammenfassung ---	1-4,12
X	WO 94 13699 A (AKZO NOBEL NV ;BOENDER PIETER JACOB (NL); HABETS WINAND JOHANNES A) 23. Juni 1994 (1994-06-23) Seq ID Nr. 10 Ansprüche ---	1-4, 7-12,14, 15
X	WO 99 45954 A (EPIMMUNE INC) 16. September 1999 (1999-09-16) Seite 73, Epitop VAY... Seite 130, Epitop NPAI... Ansprüche ---	1-4,7,9, 10
X	WO 93 06247 A (ABBOTT LAB) 1. April 1993 (1993-04-01) Seq ID Nr. 10 Ansprüche; Beispiele ---	1-4,12
X	WO 94 20127 A (CYTEL CORP) 15. September 1994 (1994-09-15) Seite 90, Epitope LLFNIL... und VLAAL.... Seite 107, Epitop 1.0890 Seite 108, Epitope 1.0493, 1.0889 und 1.0492 Ansprüche; Beispiele ---	1-4,7, 9-11
X	WO 95 22317 A (CYTEL CORP) 24. August 1995 (1995-08-24) Beispiel 12 ---	1-4,7, 9-11
X	US 5 709 995 A (CHISARI FRANCIS V ET AL) 20. Januar 1998 (1998-01-20) Seq ID Nr. 35 Spalte 23; Ansprüche; Beispiele ---	1-4,7, 9-12
X	WO 99 58658 A (EPIMMUNE INC) 18. November 1999 (1999-11-18) Seite 67, Epitop F134.05 Seite 68, Epitop 1073.05 Ansprüche; Beispiele -----	1-4,14, 15

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 01/11263

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1.  Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2.  Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich  
**siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210**
3.  Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

**siehe Zusatzblatt**

1.  Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2.  Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3.  Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4.  Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:  
**1-4, 7-15 alle partiell**

### Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.  
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## Fortsetzung von Feld I.2

Die geltenden Patentansprüche 1,3 und 5 sowie die darauf beruhenden Ansprüche 7-15 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen, Produkte und Verfahren. In der Tat umfassen sie so viele Wahlmöglichkeiten, Veränderliche, mögliche Permutationen und/oder Einschränkungen, dass sie im Sinne von Art. 84 EPÜ in einem solche Maße unklar oder zu weitläufig gefasst erscheinen, als daß sie eine sinnvolle Recherche ermöglichen. Hierbei ist insbesondere die Formulierung ' und Derivate hiervon mit verleichbarer Spezifität' im Anspruch 1, die in der Beschreibung nur vage weiter erläutert bzw. eingeschränkt wird, gemeint. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, die als klar und knapp gefaßt gelten können, nämlich die Ansprüche 1, 3 und 5 ohne die Formulierung ' und Derivate hiervon mit verleichbarer Spezifität'. Weiterhin wurde die Recherche der von Ansprüche 7-15, die entweder abhängig sind von Anspruch 1 oder sich auf ihn beziehen, entsprechend der limitierten Ansprüche 1, 3 und 5 gesucht.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

1.1. Ansprüche: 1-4 und 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz YLVAYQATVC enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

1.2. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz VVTSTWVLVGGVLAALAAAYCL enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

1.3. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz QYLAGLSTLPG enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

1.4. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz IASLMAFTA enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

1.5. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz FNILGGWVA enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

1.6. Ansprüche: 1-4, 7-15 (alle partiell)

Die Sequenz SPVFTDNSSPPAVPQSFQVA enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

2. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz TSVRLRAYLNTPGLPVDQDH enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

als Impfstoff

3. Ansprüche: 5-15 (all partiell)

Die Sequenz STEDLVNLLPAILSPGALVV enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

4. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz KLVALGINAVYYRGGLDVSIVPTSGDVVV enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

5. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz SGKPAIIPDREVLYREFDEM enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

6. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz LGIGTVLDQAETAGA enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

7. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz ETAGARLVVLATATP enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

8. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz CVTQTVDFSLDPTFT enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung als Impfstoff

9. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz RPSGMFDSSVLCECY enthaltende Epitope, darauf basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung  
als Impfstoff

## 10. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz VFPDLGVVVCEKMAL enthaltende Epitope, darauf  
basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und  
Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung  
als Impfstoff

## 11. Ansprüche: 5-15 (alle partiell)

Die Sequenz KLGVPPPLRVWRHRAR enthaltende Epitope, darauf  
basierende Impfstoffe, Verwendungen zur Diagnose und  
Therapie, Kits, für sie kodierende DNA und deren Verwendung  
als Impfstoff

Bitte zu beachten daß für alle unter Punkt 1 aufgeführten Erfindungen,  
obwohl diese nicht unbedingt durch ein gemeinsames erfinderisches  
Konzept verbunden sind, ohne Mehraufwand der eine zusätzliche  
Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, eine vollständige Recherche  
durchgeführt werden konnte.

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Int. Aktenzeichen

PCT/EP 01/11263

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9832456	A 30-07-1998	AU 6433598 A CN 1251042 T EP 1007079 A1 JP 2001511132 T US 6413517 B1 WO 9832456 A1 US 2002160019 A1	18-08-1998 19-04-2000 14-06-2000 07-08-2001 02-07-2002 30-07-1998 31-10-2002
WO 9902183	A 21-01-1999	AU 739189 B2 AU 8568998 A EP 1003548 A1 JP 2001509490 T NZ 502168 A WO 9902183 A2 US 2002007173 A1	04-10-2001 08-02-1999 31-05-2000 24-07-2001 28-08-2002 21-01-1999 17-01-2002
JP 7285994	A 31-10-1995	KEINE	
WO 9413699	A 23-06-1994	AU 5809694 A AU 6653394 A CA 2151126 A1 CA 2151128 A1 WO 9413699 A1 WO 9413700 A1 EP 0672065 A1 EP 0672066 A1 FI 952778 A FI 952779 A JP 8505131 T JP 8504421 T ZA 9309169 A	04-07-1994 04-07-1994 23-06-1994 23-06-1994 23-06-1994 23-06-1994 20-09-1995 20-09-1995 19-07-1995 31-07-1995 04-06-1996 14-05-1996 08-08-1994
WO 9945954	A 16-09-1999	WO 9945954 A1 AU 6465598 A CA 2323632 A1 EP 1064022 A1 JP 2002507397 T	16-09-1999 27-09-1999 16-09-1999 03-01-2001 12-03-2002
WO 9306247	A 01-04-1993	AT 191792 T AU 2679492 A DE 69230917 D1 DE 69230917 T2 EP 0642666 A1 ES 2145746 T3 JP 6510861 T JP 3219409 B2 WO 9306247 A1	15-04-2000 27-04-1993 18-05-2000 16-11-2000 15-03-1995 16-07-2000 01-12-1994 15-10-2001 01-04-1993
WO 9420127	A 15-09-1994	AU 6359494 A AU 6597998 A BR 9406652 A CA 2157510 A1 CN 1118572 A EP 0703783 A1 JP 8507525 T NZ 263050 A SG 49008 A1 WO 9420127 A1	26-09-1994 02-07-1998 10-09-1996 15-09-1994 13-03-1996 03-04-1996 13-08-1996 24-11-1997 18-05-1998 15-09-1994

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9420127	A	US	2002160960 A1		31-10-2002
WO 9522317	A	24-08-1995	US 6419931 B1		16-07-2002
		AU 1847395 A			04-09-1995
		AU 2500499 A			24-06-1999
		CA 2183416 A1			24-08-1995
		EP 0804158 A1			05-11-1997
		WO 9522317 A1			24-08-1995
		US 2003099634 A1			29-05-2003
US 5709995	A	20-01-1998	AT 195953 T		15-09-2000
		CA 2184890 A1			21-09-1995
		DE 69518642 D1			05-10-2000
		DE 69518642 T2			03-05-2001
		EP 0759937 A1			05-03-1997
		WO 9525122 A1			21-09-1995
		US 2002115061 A1			22-08-2002
WO 9958658	A	18-11-1999	AU 4078599 A		29-11-1999
		CA 2331846 A1			18-11-1999
		EP 1078092 A2			28-02-2001
		JP 2002520000 T			09-07-2002
		WO 9958658 A2			18-11-1999
		US 6534482 B1			18-03-2003